动　物　学　研　究　2007, Oct. 28(5): 477－484　　　　CN 53-1040/Q　　ISSN 0254-5853
Zoological Research

基于线粒体 *ND1* 和 *COI* 基因序列探讨锯眼蝶亚科主要类群的系统发生关系

殷先兵，郝家胜*，许　丽，朱国萍，黄敦元，潘鸿春
（安徽师范大学 生命科学学院分子进化与生物多样性研究室, 安徽 芜湖　241000）

摘要：测定了分布于中国的锯眼蝶亚科 4 族 10 属共 20 个种的线粒体 *ND1* 和 *COI* 基因的部分序列，结合从 GenBank 中获得的 4 个国外种类的同源序列，以凤蝶科的迪洛尔娟凤蝶（*Allancatria deyrolle*）、丝带凤蝶（*Sericinus montela*），以及娟蝶科的西猛娟蝶（*Parnassius simonius*）为外类群，通过邻接法、最大简约法、最大似然法和贝叶斯法重建了分子系统树，分析了该亚科内主要类群的系统发生关系。分析结果表明：帻眼蝶族和锯眼蝶族具有较近的亲缘关系；黛眼蝶族不是单系群，该族中的黛眼蝶属、荫眼蝶属与眉眼蝶族具有较近的亲缘关系，带眼蝶属、藏眼蝶属、毛眼蝶属和帕眼蝶属聚合为一个独立的支系，其中带眼蝶属和藏眼蝶属在所有的分析方法中均以 100%的置信度（BP=100%, PP=1.00）相聚合，建议将它们合并为一属。

关键词：锯眼蝶亚科；线粒体 *ND1* 和 *COI* 基因；系统发生关系
中图分类号：Q969.438.8; Q951.3; Q349　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0254-5853-(2007)05-0477-08

Phylogentic Relationships of Butterflies in the Subfamily Elymninae (Lepidoptera: Satyridae) Based on Mitochondrial *ND1* and *COI* Gene Sequences

YIN Xian-bing, HAO Jia-sheng*, XU Li, ZHU Guo-ping, HUANG Dun-yuan, PAN Hong-chun
(*Laboratory of Molecular Evolution and Biodiversity, College of Life Sciences, Anhui Normal University, Wuhu* 241000, *China*)

Abstract: The fragments of the mitochondrial *ND1* and *COI* gene of 20 Chinese species in the subfamily Elymninae were amplified and sequenced. Combining the homologous sequences of four foreign species from GenBank and using three species of the families Papilionidae and Parnassiidae as outgroups, phylogenetic trees of these Elymninae groups were reconstructed with neighbor joining, maximum parsimony, maximum likelihood and Bayesina inference methods. The results showed that the tribes Zetherini and Elymniini are closely related to each other. The tribe Lethini is not monophyletic, the genera Lethe and Neope are closely related to the tribe Mycalesini and the genera Chonala, Tatinga, Lasiommata and Pararge form a monophyletic clade. The genera Chonala and Tatinga were clustered together in all the trees and supported with a 100% bootstrap value or a posterior probability of 1.00, and should be classified as one genus.

Key words: Elymninae; Mitochondrial *ND1* and *COI* genes; Phylogeny

锯眼蝶亚科（Elymninae）隶属于眼蝶科（Satyridae），是该科中仅次于眼蝶亚科（Satyrinae）的第二大亚科，物种丰富，主要分布于古北区和东洋区（Chou, 2000）。该亚科蝶类多为中型或大型种类，通常颜色暗而不鲜艳。和大多数眼蝶类群一样，由于缺乏有效的形态学同源鉴别性状，该亚科基于形态学建立起来的传统分类体系以及类群间的系统发生关系还存在许多未解难题（Miller, 1968; Ackery, 1984; García-Barros & Martín, 1991; Harvey, 1991）。

收稿日期：2007-07-03；接受日期：2007-08-28
基金项目：安徽省“重要生物资源保护与利用”重点实验室及中青年学术带头人专项基金；安徽师范大学“生物大分子进化”重点实验室开放课题基金；安徽省高校学术与技术带头人专项基金和安徽省高校“生物环境与生态安全”省级重点实验室基金资助课题
*通讯作者（Corresponding author），E-mail: jshaonigpas@sina.com
第一作者简介：殷先兵，硕士研究生，E-mail: yxbing001@126.com

目前，对于眼蝶的系统学研究已深入到分子水平，先后有学者利用线粒体基因（如 16*S* rRNA、*COI* 和 *ND1* 等基因）和核基因（如 EF-1α 和 Wingless 等基因）研究眼蝶的系统发育并取得一些可喜的成果。Martin et al（2000）、Murray & Prowell（2005）和 Peña et al（2006）的研究结果均显示，传统形态学分类体系中的眼蝶科是多系发生的，其内部的多数分类群也均非自然类群。其中作为眼蝶科中的第二大亚科，锯眼蝶亚科亦为多系群，其内部一些分类群，如黛眼蝶族（Lethini）和眉眼蝶族（Mycalesini）等的分类位置受到质疑，它们与眼蝶亚科类群间的亲缘关系较之与锯眼蝶亚科应该更近一些，建议将它们从锯眼蝶亚科中分离出来，归入眼蝶亚科。然而，上述这些研究主要是针对眼蝶科整个类群或者是该科的其他类群，其中，锯眼蝶亚科的取样有限，其有关类群间系统发生关系尚需进一步探讨。

线粒体 DNA（mitochondrial DNA, mtDNA）以母系遗传方式遗传，结构简单，进化主要以碱基替换为主，插入和缺失较少，且进化速度较快，是研究低级分类阶元系统发育较好的分子标记，目前被广泛用于昆虫和其他动物系统进化的研究（Chen & Jiang, 2004; Wu et al, 2007）。本研究从我国多个地区采集了锯眼蝶亚科部分种类，测定了它们的线粒体基因 *ND1* 和 *COI* 基因的部分序列，并据此构建了分子系统树，以期探讨该亚科主要类群间的系统发生关系。

1 材料和方法

1.1 实验材料

本实验所用的锯眼蝶亚科的材料及来源见表 1。标本从野外采集带回实验室，经鉴定后立即置 75%的酒精固定，置于－20℃冰箱保存备用。内群包括 24 个代表种，隶属于 4 个族 10 个属。本研究测定了其中 20 个国产代表种的 *ND1* 基因和 *COI* 基因部分序列，从 GenBank 中下载了该亚科另外 4 个物种的相应序列。选取凤蝶科（Papilionidae）的 2 个物种[迪洛尔娟凤蝶（*Allancatria deyrolle*），其 *ND1* 和 *COI* 基因的 GenBank 登录号分别为 DQ351077，DQ35104；丝带凤蝶（*Sericinus montela*），其对应的基因的 GenBank 登录号分别为 DQ351071，AF170868]和娟蝶科（Parnassiidae）的 1 个物种 [西猛娟蝶（*Parnassius simonies*），其对应的基因的 GenBank 登录号分别为 DQ351068，AF170871] 作为外群。

1.2 基因组 DNA 的提取与纯化

采取本实验室改进的玻璃粉法提取和纯化 DNA。方法：取样品背部米粒大小的肌肉置 1.5 mL Eppendorf 管中，ddH$_2$O 冲洗两次后，再浸泡 2—3 h；加 400—600 μL DNA 孵育液（0.5% SDS, 15 mmol/L EDTA, 5 mmol/L NaCl, 10 mmol/L Tris-HCl, pH 7.6），40 μL PK（20 mg/mL），55℃下孵育 2 h；吸出孵育液转到新的 Eppendorf 管中，加 8 mol/L 硫氰酸胍（其量和孵育液相当）和 40 μL 50%的玻璃粉乳液,混匀后置 37℃水浴 2 h，不时摇动；取出，4000 r/min 离心 2min，弃上清液，沉淀用 75%乙醇冲洗 2 次，再用丙酮冲洗 1 次，每次 4000 r/min 离心 1 min；置真空干燥机中彻底干燥；加 TE 80 μL，56℃水浴 30 min 以上；取出，4 000 r/min 离心 1 min，取上清，置－20℃冰箱保存备用。

1.3 引物合成、PCR 扩增及序列测定

扩增两种线粒体基因的引物均为通用引物，*ND1* 基因引物序列为 *ND1*a：5′-CGTAAAGTCCT-AGGTTATATTCAGATTCG- 3′，*ND1*b：5′-ATCAA-AAGGAGCTCGATTAGTTTC- 3′；*COI* 基因引物序列为 *COI*a：5′-GGTCAACAAATCATAAAGATA-TTG- 3′，*COI*b：5′-TAAACTTCAGGGTGACCAA-AAAAT- 3′，引物由上海申能博彩生物科技有限公司合成。PCR 反应的总体积为 50 μL，其中 10× Buffer 5 μL，25mmol/L MgCl$_2$ 5 μL，0.6 mg/mL BSA 7.5 μL，10 mmol/L dNTP 1 μL，10 nmol/L 引物各 1 μL，DNA 模板 1 μL，Taq 酶 0.5U。反应程序为：94℃预变性 5min；94℃变性 30s，*ND1* 基因与 *COI* 基因分别为 48℃和 50℃复性 40s，72℃延伸 30s，35 个循环；72℃总延伸 10min。反应产物经 1.0%的琼脂糖凝胶电泳检测和 Gel Dos 图像分析仪观察。PCR 产物经 3S 柱离心式 PCR 产物小量快速纯化试剂盒（上海申能博彩）纯化后，在 ABI-377 型 DNA 自动测序仪进行序列测定（上海英骏生物技术有限公司）。

1.4 序列分析

序列的多重比对由 Clustal X 软件（Thompson et al, 1997）完成，并辅以人工校对。由 DAMBE 软件

表 1　样品的种类、来源及 GenBank 登录号

Tab. 1　Sample sources and their GenBank accession numbers

族 Tribe	种 Species	采集地点与时间 Sampling locality and time	登录号 Accession No（*COI*）	登录号 Accession No（*ND1*）
黛眼蝶族 Lethini	甘萨黛眼蝶 *Lethe kansa*	云南 景洪 Jinghong, Yunnan.2006	EF597536	EF597549
	白带黛眼蝶 *Lethe confusa*	云南 丽江 Lijiang, Yunnan.2006	EF597534	EF597547
	长纹黛眼蝶 *Lethe europa*	云南 景洪 Jinghong, Yunnan. 2006	EF597535	EF597548
	安徒生黛眼蝶 *Lethe andersoni*	云南 景洪 Jinghong, Yunnan. 2006	EF545699	EF597545
	曲纹黛眼蝶 *Lethe chandica*	安徽 黄山 Huangshan, Anhui. 2005	EF597533	EF597546
	连纹黛眼蝶 *Lethe syrcis*	安徽 黄山 Huangshan, Anhui. 2005	EF545700	EF597550
	德祥荫眼蝶 *Neope dejeani*	四川 都江堰 Dujiangyan, Sichuan.2006	EF597540	EF597556
	网纹荫眼蝶 *Neope christi*	云南 丽江 Lijiang, Yunnan. 2006	EF597539	EF597555
	蒙链荫眼蝶 *Neope muirheadi*	安徽 黄山 Huangshan, Anhui. 2005	EF545706	EF597557
	藏眼蝶 *Tatinga tibetana*	云南 丽江 Lijiang, Yunnan. 2006	EF545709	EF597560
	棕带眼蝶 *Chonala praeusta*	云南 景洪 Jinghong, Yunnan. 2006	EF545694	EF597541
	毛眼蝶 *Lasionmmata megera*	法国 France	DQ176351	AF229960
	斗毛眼蝶 *Lasiommata deidamia*	山西 五台山 Wutaishan, Shanxi. 2006	EF545698	EF597544
	玛毛眼蝶 *Lasionmmata maera*	法国 France	DQ176350	AF229943
	帕眼蝶 *Pararge aegeria*	法国 France	DQ176399	AF229957
	星帕眼蝶 *Pararge xiphia*	法国 France	DQ176361	AF229956
眉眼蝶族 Mycalesini	平顶眉眼蝶 *Mycalesis panthaka*	云南 景洪 Jinghong, Yunnan. 2006	EF545705	EF597554
	拟稻眉眼蝶 *Mycalesis francisca*	四川 都江堰 Dujiangyan, Sichuan. 2006	EF597537	EF597551
	小眉眼蝶 *Mycalesis mineus*	云南 景洪 Jinghong, Yunnan. 2006	EF545704	EF597553
	稻眉眼蝶 *Mycalesis gotama*	云南 景洪 Jinghong, Yunnan. 2006	EF597538	EF597552
帻眼蝶族 Zetherini	白斑眼蝶 *Penthema adelma*	四川 都江堰 Dujiangyan, Sichuan. 2006	EF545708	EF597559
	凤眼蝶 *Neorina patria*	四川 都江堰 Dujiangyan, Sichuan. 2006	EF545707	EF597558
锯眼蝶族 Elymniini	龙女锯眼蝶 *Elymnias nesaea*	云南 景洪 Jinghong, Yunnan. 2006	EF545696	EF597543
	翠袖锯眼蝶 *Elymnias hypermnestra*	海南 文昌 Wenchang, Hainan. 2005	EF545695	EF597542

分类单元依据 Chou et al（2000）。The taxonomy is according to Chou et al（2000）.

（Xia et al, 2001）完成对序列的重新加工并将之转换成*.meg 格式文件，由 Dnasp4 软件将*.meg 格式文件转换成*.nex 格式。采用 MEGA3.1 软件（Kumar et al, 2004）分析各物种的 *ND1* 和 *COI* 基因的碱基组成和转换/颠换比率，基于 K2P（Kimura, 1980）模型计算各类群间遗传距离。系统分析以凤蝶科的迪洛尔娟凤蝶、丝带凤蝶和娟蝶科的西猛娟蝶为外类群，采用邻接法（neighbor joining, NJ）、最大简约法（maximum parsimony, MP）、最大似然法（maximum likelihood, ML）和贝叶斯法（bayesian inference, BI）构建分子系统树。

以 Paup4.0b10 软件（Swofford, 2002）构建 ML、NJ 和 MP 树，系统树各分支的置信度以自引导值（bootstrap value, BP）表示。ML 树根据 Modeltest3.7（Posada & Crandall, 1998）软件估算出数据最优模型为 GTR+I+G，lset 设置 base=（0.3465 0.0994 0.0926），nst=6，Rmat=（1.0000 15.6426 3.4266 3.4266 15.6426），rates=gamma,shape=0.7150，pinvar=0.4576；采用启发式搜索（heuristic search），自引导抽样检验设置 100 次重复。构建 NJ 和 MP 树同样采用启发式搜索，但自引导抽样检验设置为 1 000 次重复。以 Mrbayes3.1.2 软件（Huelsenbeck & Ronquist, 2001）构建贝叶斯树，lset 设置替换模型 nst=6，位点速率变异模型设置为 rates=gamma。同

时建立 4 个马尔可夫链，以随机树为起始树，共运行 100 万代，每 100 代抽样一次，重复一次，在舍弃老化样本后（2500 代），根据剩余样本构建一致树，并计算相关参数，系统树各分支的置信度评估以后验概率（posterior probability value, PP）表示。两次贝叶斯法分析在饱和时得到了相似的对数似然值, 这表明马尔科夫链是收敛的，可以相信贝叶斯法的分析结果。

2 结 果

2.1 碱基组成和序列变异

序列测定结果表明，*COI* 基因的序列长度大约 660 bp，*ND1* 基因的序列长度大约为 480 bp，无插入和缺失。经比对剪切掉两端的多余序列：*COI* 基因的序列长度为 651 bp，其中保守位点 405 个，可变位点 246 个，简约信息位点 179 个，A、T、C 和 G 四碱基的平均含量分别为 31.5%、48.3%、8.3%和 11.9%；*ND1* 基因序列长度为 454 bp，其中保守位点 233 个，可变位点 221 个，简约信息位点 167 个，A、T、C 和 G 四碱基的平均含量分别为 29.5%、39.7%、16.3%和 14.5%。

将剪切后的 2 基因联合，得到的序列总长度为 1105 bp，其中保守位点 638 个，可变位点 467 个，简约信息位点 364 个；A、T、C 和 G 四碱基的平均含量分别为 30.3%、43.2%、13.0%和 13.5%，其中 A+T 的平均含量为 73.5%，明显高于 C+G 的平均含量 26.5%；各代表种（含外群）间的平均遗传距离为 0.132，其中长纹黛眼蝶（*Lethe europa*）和迪洛尔眼蝶间的遗传距离最大，为 0.187，藏眼蝶（*Tatinga tibetana*）和棕带眼蝶（*Chonala praeusta*）间的遗传距离最小，为 0.046；内群间的平均遗传距离为 0.123，凤眼蝶（*Neorina patria*）和长纹黛眼蝶间的遗传距离最大，为 0.166。

物种间序列位点变异总体上表现为颠换数略多于转换数，转换/颠换（Ts/Tv）的平均值为 0.990。序列间的变异饱和分析显示，随着序列间差异程度的增加，碱基的颠换随着序列歧异度的增加成线型增长，而碱基的替换则出现饱和现象。

2.2 分子系统树

本研究以 2 个基因序列联合数据分别构建了 NJ 树（图 1）、MP 树（图 2）、ML 树和贝叶斯树（图 3），其中 ML 树拓朴结构与贝叶斯树基本相同，限于篇幅没有给出。系统树各分支的置信度：NJ 树、MP 树和 ML 树均以自引导值表示，贝叶斯树以后验概率表示。置信度低于 50%的值未显示。

NJ 树、ML 树和贝叶斯树均显示：所有的内群聚为两大支系：锯眼蝶族（Elymniini）和帻眼蝶族（Zetherini）的所有代表种聚合在一起形成一个支系；其余的种类聚合为另一个大的支系。后一支系又形成两大分支：其中一支是由黛眼蝶族的部分类群构成，包括毛眼蝶属（*Lasiommata*）、带眼蝶属（*Chonala*）、藏眼蝶属（*Tatinga*）和帕眼蝶属（*Pararge*）的所有代表种；另一支由眉眼蝶族[本研究仅有眉眼蝶属（*Mycalesis*）]以及黛眼蝶族的剩余种类[包括黛眼蝶属（*Lethe*）和荫眼蝶属（*Neope*）]构成，其中眉眼蝶族和黛眼蝶族中的黛眼蝶属、荫眼蝶属均形成单系结构。在 NJ 树中，荫眼蝶属与眉眼蝶族形成姊妹群，但 BP<50%；在 ML 树和贝叶斯树中，荫眼蝶属与黛眼蝶属形成姊妹群，尽管贝叶斯树 PP=0.85，但 ML 树 BP<50%。

MP 树与上述三棵树总体上基本一致。其与贝叶斯树相比较，主要存在 3 处差异：（1）锯眼蝶族和帻眼蝶族不是聚合在一起，而是各自形成一个独立的支系，先后与其他内群相聚合；（2）黛眼蝶属虽然亦形成单系结构，但各代表种聚合的位置却有所不同；（3）荫眼蝶属虽然亦与黛眼蝶属相聚合，但 BP<50%。

本研究构建的各种分子系统树虽然拓扑结构有所不同，但均显示：帻眼蝶族与锯眼蝶族亲缘关系较近；黛眼蝶族不是单系发生，但其中的带眼蝶属、藏眼蝶属、毛眼蝶属和帕眼蝶属在所有的分子系统树中均以高置信度（BP>80%, PP=1.00）聚合在一起，而带眼蝶属和藏眼蝶属在所有的分析方法中均以 100%的置信度（BP=100%, PP=1.00）相聚合。眉眼蝶族、黛眼蝶族的黛眼蝶属和荫眼蝶属均形成单系结构，且三者聚合在一起形成一个独立的支系。

3 讨 论

3.1 序列变异分析

通过对 24 种锯眼蝶亚科蝶类的 *COI* 和 *ND1* 基因的部分序列组合数据进行分析，结果表明，A、T、C 和 G 四碱基的平均含量分别为 30.3%、43.2%、13.0%和 13.5%，其中 A+T 的平均含量为 73.5%，

明显高于 C+G 的平均含量 26.5%，与其他文献报道的昆虫线粒体 DNA 碱基组成一致（Simon et al,1994; Brower & DeSalle, 1998）。序列数据组的转换颠换比（Ts/Tv）平均为 0.990，颠换值平均比转换值略高。出现这种结果，推测可能有两个原因：（1）可能是由于某些位点发生了多次转换替代，即转换出现了饱和现象。笔者以序列差异比值为横坐标，以转换数和颠换数为纵坐标所得到的散点图也表明随着差异程度的增加，转换达到了饱和，从而证实了我们的上述推论。（2）与高 A + T 含量也有很大的关系，因为高 A + T 含量高增加了 A 与 T 颠换的可能性，从而导致 Ts/Tv 值降低（DeSalle et al, 1997）。

3.2　锯眼蝶亚科的系统发生关系

Miller（1968）的分类体系将眼蝶作为与蛱蝶科（Nymphalidae）相并列的科级分类单元。然而 Harvey（1991）的分类体系在 Miller 的基础上增加了幼虫和蛹的形态学特征，该体系把眼蝶作为蛱蝶科中的一个亚科，并将其内部相应的亚科和族下降一个阶元成为族和亚族。近年来的分子系统学研明，眼蝶作为蛱蝶科的一个亚科应该更为合理：Brower（2000），Wahlberg et al（2003, 2005）以及 Freitas & Brown（2004）的研究均显示，眼蝶形成的分支在蛱蝶科的内部，和闪蝶亚科（Morphinae）[等同于周尧的闪蝶科(Morphidae）]、螯蛱蝶亚科（Charaxininae）和绢蛱蝶亚科（Calinaginae）的亲缘关系较近。因而，眼蝶作为蛱蝶科中的亚科级分类阶元，目前在国际上已被普遍认同，相应地，锯眼蝶亚科便被下降一个阶元成为锯眼蝶族，其内部的族也就变成了相应的亚族（Harvey, 1991; Ackery et al, 1999）。目前，中国蝶类的分类仍按照周尧（2000）的形态学分类方法，锯眼蝶亚科被分为 4 个族，分别为黛眼蝶族、眉眼蝶族、帻眼蝶族和锯眼蝶族。

在锯眼蝶亚科中，锯眼蝶族是一个很特殊的类群，其幼虫寄主为棕榈科植物，与环蝶科（对应于

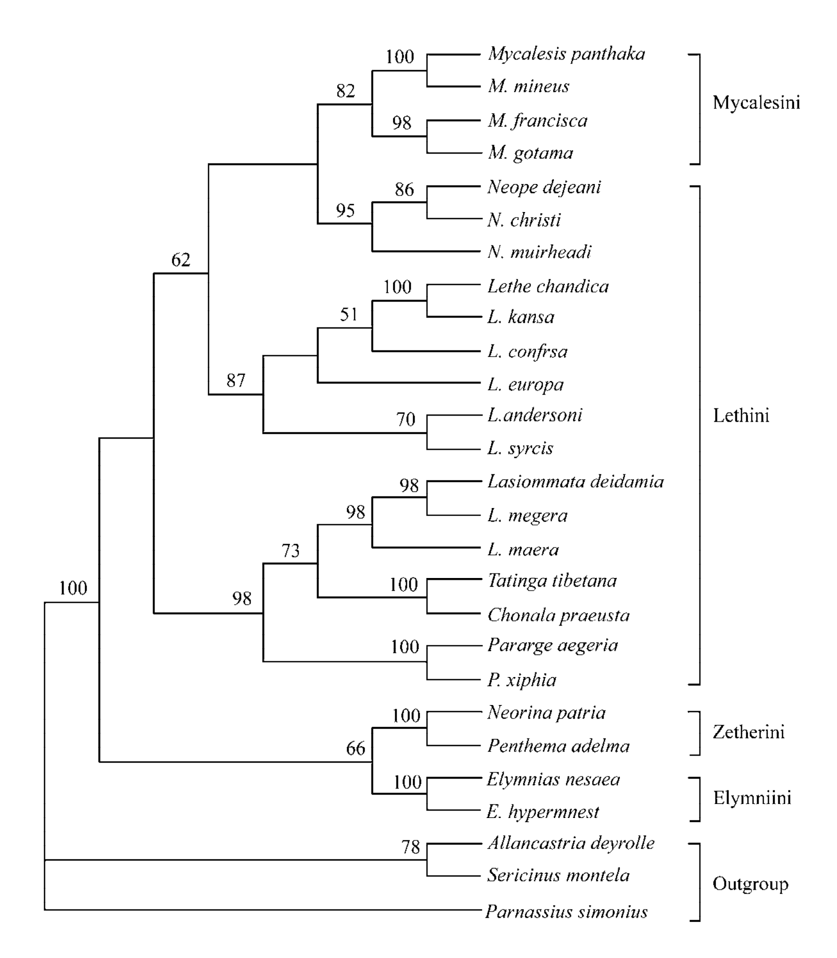


图 1　线粒体 *COI* 和 *ND1* 基因联合构建的 NJ 树

Fig. 1　NJ tree based on the combined data of mitochondrial *COI* and *ND1* gene sequences

各分支上的数字为自引导值（1 000 次重复抽样检验）。Numbers on each node are bootstrap values of 1 000 replicates.

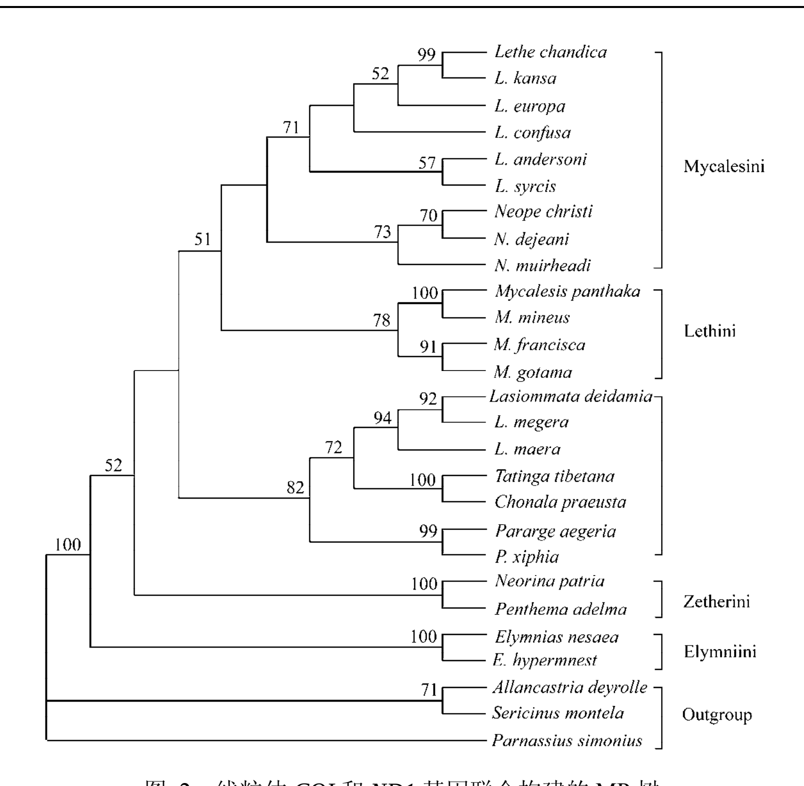


图 2 线粒体 *COI* 和 *ND1* 基因联合构建的 MP 树

Fig. 2 MP tree based on the combined data of mitochondrial *COI* and *ND1* gene sequences

各分支上的数字为自引导值（1 000 次重复抽样检验）。Numbers on each node are bootstrap values of 1 000 replicates.

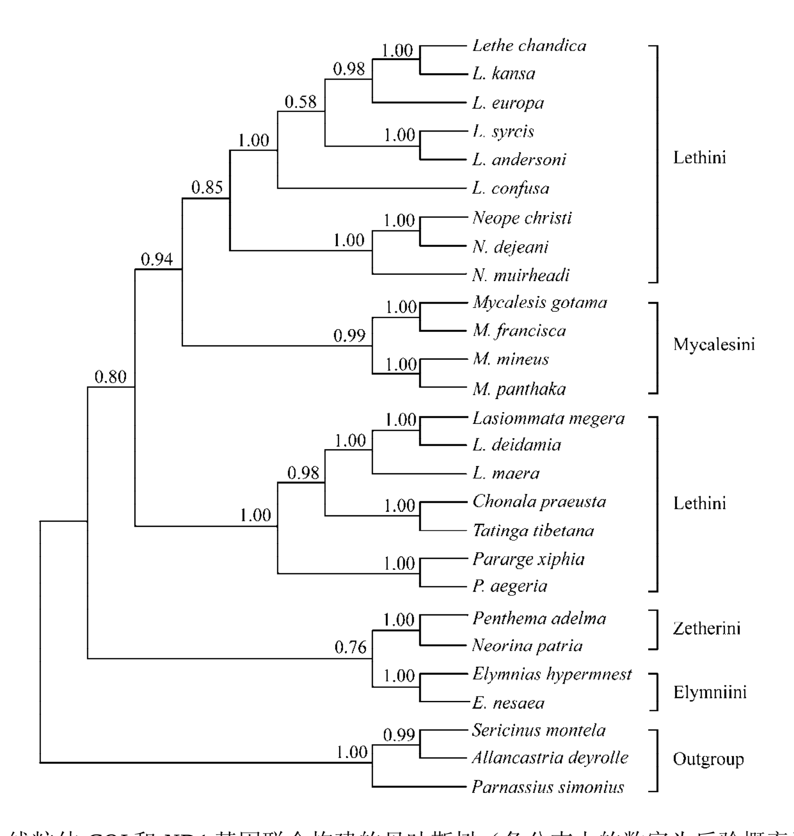


图 3 线粒体 *COI* 和 *ND1* 基因联合构建的贝叶斯树（各分支上的数字为后验概率）

Fig. 3 The Bayesian tree from the combined data of mitochondrial *COI* and *ND1* gene sequences

（Numbers on each node are posterior probability values）

Ackery 的环蝶族）的蝶类一样（Ackery, 1988）。眼蝶仅少数种类以棕榈科植物作为寄主，如晶眼蝶亚科（Haeterinae）[等同于 Ackery 的晶眼蝶族（Haeterini）]的镀眼蝶属（*Dulcedo*）（DeVries, 1987），而国产眼蝶仅帻眼蝶族的凤眼蝶属有此种情形（Ackery, 1988）。这似乎暗示锯眼蝶族与环蝶科以及帻眼蝶族的蝶类具有较近的亲缘关系。Peña et al（2006）的研究结果也显示锯眼蝶族和（帻眼蝶族+环蝶科）+（闪蝶科+其余的眼蝶）组合为姊妹群关系[本文中的锯眼蝶族、帻眼蝶族、环蝶科（Amathussidae）和闪蝶科分别对应于 Peña 的锯眼蝶亚族（Elymniina）、帻眼蝶亚族（Zetherina）、环蝶族（Amathusiini）和闪蝶亚科，其中环蝶族隶属于闪蝶亚科]。综合上述分析结果，笔者认为，锯眼蝶族可能是眼蝶当中最早分化出来的类群，帻眼蝶族与其可能具有较近的亲缘关系。

眉眼蝶族和黛眼蝶族是锯眼蝶亚科中最大的两个族，包括了锯眼蝶亚科中大部分种类。然而，最新研究结果却支持将这两个族从锯眼蝶亚科中分离出来，归入眼蝶亚科（Peña et al, 2006）。至于这两个族之间的系统发生关系，本研究与 Peña et al（2006）的研究结果基本一致：眉眼蝶族与黛眼蝶族中的荫眼蝶属、黛眼蝶属相聚合（BP>50%, PP=0.94）。形态学方面，荫眼蝶属和黛眼蝶属的复眼有毛，而眉眼蝶族中有些类群复眼亦有毛（如本研究中的眉眼蝶属）。所以，综合上述分析结果，笔者认为黛眼蝶族中的黛眼蝶属、荫眼蝶属与眉眼蝶族可能具有较近的亲缘关系。

3.3　黛眼蝶族的系统发生关系

Martin et al（2000）和 Peña et al（2006）的研究结果均显示黛眼蝶族不是单系群，本研究结果与他们一致。本研究中，黛眼蝶族聚合为两部分：其中的黛眼蝶属、荫眼蝶属与眉眼蝶族相聚合，而带眼蝶属、藏眼蝶属、毛眼蝶属和帕眼蝶属则聚合为一个独立的支系，且置信度较高（BP>80%, PP=1.00）。本研究多数分析方法（如 MP、ML 和贝叶斯法）显示荫眼蝶属与黛眼蝶属互为姊妹群，但置信度较低，仅贝叶斯树 PP=0.85。然而形态学方面，黛眼蝶属和荫眼蝶属的蝶类较之黛眼蝶族中的其他属却更为接近。它们不仅外形近似，且其他特征亦有多处相似，如复眼（均有毛）、翅脉和雄性外生殖器等。至于置信度偏低，笔者认为更多的基因介入可能会解决这个问题。所以，综合 Peña et al（2006）的研究结果，笔者倾向于认为黛眼蝶属和荫眼蝶属亲缘关系较近，而带眼蝶属、藏眼蝶属、毛眼蝶属和帕眼蝶属和它们的亲缘关系则较远，可以考虑将它们从黛眼蝶族中分离出来，成立一个新的族。

本研究以各种不同方法分析得到的结果，带眼蝶属和藏眼蝶属均以 100%的置信度相聚合。本研究中它们的遗传距离也是最小，为 0.046，远小于黛眼蝶属（本研究取样 6 种）的种间平均遗传距离 0.100 和眉眼蝶属（本研究取样 4 种）的 0.098。全球范围内，带眼蝶属有 3 种，主要分布于我国（锡金、不丹亦有少量分布）；藏眼蝶属仅 1 种，为我国特有物种（Chou, 1998）。两者均为中型眼蝶，外形相似，翅脉特征一致。所以，尽管翅面斑纹差异较大，但综合起来考虑，它们的亲缘关系应该很近，笔者建议将这两个属合并为一属。

3.4　眉眼蝶族的系统发生关系

眉眼蝶族全世界已记录大约 230 种，分属 11 个属（Condamin, 1973; Ackery et al, 1995; Aoki et al, 1982; Lees, 1997），是锯眼蝶亚科中最大的类群之一，但在我国分布较少，仅有 2 属——眉眼蝶属和奥眼蝶属，本研究仅有眉眼蝶属。传统的形态学分类对于其属的划分一直是根据物种的整体外部形态、翅脉和复眼上是否有毛等少数形态学特征（Vane-Wright, 1971; Eliot, 1992; Condamin, 1973），但事实上仍存在局限（Vane-Wright, 1971）。Lee（1997）和 Terres et al（2001）先后用形态学数据和分子证据对美国马达加斯加的眉眼蝶（包括 5 个属）进行系统学分析，得出的结论是其中 3 个比较大的属要么是并系要么是多系，显示出眉眼蝶族内部系统关系的复杂性。眉眼蝶属是眉眼蝶族中最大的属，全世界约 103 种，主要分布在亚洲和大洋洲（Aoki et al, 1982; Monteiro & Pierce, 2001; Shou et al, 2006）。本研究除了 *ND1* 基因构建的 NJ 树以外，其余的分析结果均支持其为单系群。但考虑到该属种类较多，分属检索特征为前翅 3 条脉纹基部均膨大，而眼蝶亚科的珍眼蝶属亦有此特征（Chou, 1998），鉴于本研究取样量较少（仅 4 种），因而，其单系与否，目前尚无定论，还有待于进一步研究。

参考文献：

Ackery PR. 1984. Systematic and faunistic studies on butterflies［A］ In: Vane-Wright RI, Ackery PR. The Biology of Butterflies［M］. Princeton: Princeton University Press, 9-21.

Ackery PR. 1988. Hostplants and classification: a review of nymphalid butterflies[J]. *Biological Journal of the Linnean Society*, **33**: 95-203.

Ackery PR, Smith CR, and Vane-Wright RI. 1995. Carcasson's African Butterflies: An Annotated Catalogue of the Papilionoidea and Hesperoidea of the Afrotropical Region［M］. Melbourne: CSIRO, 287-303.

Ackery PR, De Jong R, Vane-Wright RI. 1999. The butterflies: Hedyloidea, Hesperoidea and Papilionoidea［A］. In: Kristensen NP. Lepidoptera: Moths and Butterflies. 1. Evolution, Systematics and Biogeography. Handbook of Zoology, vol. IV［M］. Berlin: Walter de Gruyter, Part 35.

Aoki T, Yamaguchi S, Uemura Y. 1982. Butterflies of the South East Asian Islands. III. Satyridae, Libytheidae［M］. Tokyo: Plapac.

Brower AVZ, DeSalle R. 1998. Patterns of mitochondrial versus nuclear DNA sequence divergence among nymphalid butterflies: The utility of wingless as a source of characters for phylogenetic inference［J］. I*nsect Molecular Biology*, **7**: 73-82.

Brower AVZ. 2000. Phylogenetic relationships among the Nymphalidae（Lepidoptera）inferred from partial sequences of the wingless gene［J］. *Proceedings of the Royal Society of London*, **267**: 1201-1211.

Chen AH, Jiang GF. 2004. Phylogenetic relationships among 12 species of Tetrigidae（Orthoptera: Tetrigoidea）based on partial sequences of 12*S* and 16*S* ribosomal RNA［J］. *Zool Res*, **25**（6）: 510-514.［陈爱辉, 蒋国芳. 2004. 基于线粒体 12*S* 和 16*S* rRNA 部分序列探讨蚱科 12 种的系统发育关系. 动物学研究, **25**（6）: 510–514.］

Chou I. 1998. Classification and Identification of Chinese Butterflies［M］. Zhengzhou: Henan Scientific and Technological Publishing House.［周 尧. 1998. 中国蝴蝶分类鉴定. 郑州: 河南科学技术出版社.］

Chou I. 2000. Monographia Rhaopalocerorum Sinensium（Revised Edition）［M］. Zhengzhou: Henan Scientific and Technological Publishing House.［周 尧. 2000. 中国蝶类志（修订版）. 郑州: 河南科学技术出版社.］

Condamin, M. 1973. Monographie du Genre *Bicyclus*（Lepidoptera: Satyridae）［J］. *Mem Inst Fondam Afrique Noire*, **88**: 1-324.

Desalle R, Freedman T, Prager EM. 1997. Tempo and mode of sequence evolution in mitochondrial DNA of Hawaiian *Drosophila*［J］. *J Mol Evol*, **26** : 157-1641.

DeVries PJ. 1987. The Butterflies of Costa Rica and Their Natural History. Volume Ⅰ Papilionidae, Pieridae, Nymphalidae［M］. Princeton: Princeton University Press.

Eliot JN. 1992. The Butterflies of the Malay Peninsula by A Steven Corbet and HM Pendlebury［M］. Kuala Lumpur: Malayan Nature Society, 126–127.

Freitas AVL, Brown JR. 2004. Phylogeny of the Nymphalidae（Lepidoptera）［J］. *Syst Biol*, **53**: 363-383.

García-Barros E, Martín J. 1991. Immature stages of Hipparchia Fabricius and the systematics of the Satyrus series（Lepidoptera: Nymphalidae: Satyrinae）［J］. *Syst Entomol*, **16**: 407-426.

Harvey DJ. 1991. Higher classification of the Nymphalidae, Appendix B[A]. In: Nijhout HF. The Development and Evolution of Butterfly Wing Patterns［M］. Washington DC: Smithsonian Institution Press, 255-273.

Huelsenbeck JP, Ronquist F. 2001. Mrbayes: Bayesian inference of phylogeny［J］. *Bioinformatics*, **17**（8）: 754 -755.

Huelsenbeck JP, Ronquist F, Nielsen R. 2001. Bayesian inference of phylogeny and its impact on evolutionary biology［J］. *Science*, **294**: 2310-2314.

Kimura M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences[J]. *J Mol Evol,* **16**: 111-120.

Kumar S, Tamura K, Nei M. 2004. MEGA3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment[J]. *Brief Bioinformatics*, **5**: 150-163.

Lees DC. 1997. Systematics and Biogeography of Madagascan Mycalesine Butterflies（Lepidoptera: Satyrinae）［D］. PhD thesis, University of London.

Martin JF, Gilles A, Descimon H. 2000. Molecular phylogeny and evolutionary patterns of the *European satyrids* （Lepidoptera: Satyridae）as revealed by mitochondrial gene sequences［J］. *Mol Phylogenet Evol*, **15**: 70-82.

Miller LD. 1968. The higher classification, phylogeny and zoogeography of the Satyridae（Lepidoptera）［J］. *Memoirs of the American Entomological Society*, **24**: 1-174.

Murray D, Prowell DP. 2005. Molecular phylogenetics and evolutionary history of the neotropical Satyrine Subtribe Euptychiina（Nymphalidae: Satyrinae）［J］. *Mol Phylogenet Evol*, **34**: 67-80.

Monteiro A, Pierce NE. 2001. Phylogeny of Bicyclus（Lepidoptera: Nymphalidae） inferred from *COI*, COII and EF-α gene sequences［J］. *Mol Phylogenet Evol*, **18**: 264-281.

Peña C, Wahlberg N, Weingartner E, Kodandaramaiah U, Nylin S, Freitas AVL, Brower AVZ. 2006. Higher lever phylogeny of Satyrinae butterflies（Lepidoptera: Nymphalidae）based on DNA sequence data［J］. *Mol Phylogenet Evol*, **40**: 29-49.

Posada D, Crandall KA. 1998. Modeltest: Testing the model of DNA substitution［J］. *Bioinformatics*, **14**: 817-818.

Shou JX, Zhou Y, Li YF. 2006. Systematic Butterfly Names of the World［M]. Shaanxi: Shaanxi Science and Technology Press.[寿建新, 周尧, 李宇飞. 2006. 世界蝴蝶分类名录. 陕西: 陕西科学技术出版社.］

Simon C, Frati A, Beckenbach A, Crespi B, Liu H, Flook P. 1994. Evolution, weighting and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers［J］. *Ann Entomol Soc Am*, **87**: 651-701.

Swofford DL. 2002. PAUP* 4. 0610: Phylogenetic Analysis Using Parsimony（* and other methods）, beta version［M］. Sunderland: Sinauer Associates.

Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG. 1997. The Clustal X windows interface; Flexible strategies for multiple sequences alignment aided by quality analysis tools［J］. *Nucleic Acids Research*, **24**: 4876-4882.

Torres E, Lees DC, Vane-Wright RI, Kremen C, Leonard JA, Wayne RK. 2001. Examining monophyly in a large radiation of Madagascan butterflies（Lepidoptera: Satyrinae: Mycalesina）based on mitochondrial DNA data［J］. *Mol Phylogenet Evol*, **20**: 460-473.

Vane-Wright RI. 1971. The systematics of *Drusillopsis* Oberthur（Satyrinae）and the supposed Amathusiid *Bigaena* van Eecke（Lepidoptera: Nymphalidae）, with some observations on Batesian mimicry［J］. *Trans R Entomol Soc Lond*, **123**: 97-123.

Wahlberg N, Weingartner E, Nylin S. 2003. Towards a better understanding of the higher systematics of Nymphalidae（Lepidoptera: Papilionoidea）［J］. *Mol Phylogenet Evol*, **28**: 473-487.

Wahlberg N, Braby MF, Brower AVZ, de Jong R, Lee M-M, Nylin S, Pierce NE, Sperling FAH, Vila R, Warren AD, Zakharov E. 2005. Synergistic effects of combining morphological and molecular data in resolving the phylogeny of butterflies and skippers［J］. *Proceedings of the Royal Society of London*, **272**: 1577-1586.

Wu DX, Hao JS, Zhu GP, Chen N, Su CY, Pan HC, Zhang XP. 2007. Phylogentic relationships of butterflies in the subfamily Limenitinae based on mitochondrial cytochrome b gene sequences［J］. *Zool Res*, **28**（1）:1-8.［吴冬霞, 郝家胜, 朱国萍, 陈 娜, 苏成勇, 潘鸿春, 张小平. 2007. 基于线粒体 Cyt*b* 基因的线蛱蝶亚科的系统发育. 动物学研究, **28**（1）:1-8.］

Xia X, Xie Z. 2001. DAMBE: Data analysis in molecular biology and evolution［J］. *J Heredity*, **92**: 371-373.